

全蝎이 老齡에 따른 mouse의 免疫 機能에 미치는 影響

정인채, 정지천*

I. 緒 論

면역기능의 저하는 외부로부터의 항원에 대한 처리 기능의 저하로 인해 생체의 균형을 유지하는 항상성을 깨뜨리면서 악성종양을 비롯한 다양한 질병의 원인이 된다고 알려져 있다^{1,2)}. 특히, 나이가 들수록 이러한 현상의 심각성은 한층 두드러지게 나타나^{2,3)} 다가오는 고령화 사회에 많은 문제점을 제시하고 있다.

한의학에서 正氣란 인체의 기능 활동과 질병에 대한 방어, 투쟁 및 회복 능력을 말하며, 邪氣란 六淫, 疫癘, 痰飲, 瘀血 등 인체에 유해한 발병인자를 말한다. 그러므로, 邪氣의 侵害와 正氣의 抵抗 사이의 相互抗爭으로 말미암아 질병이 발생하는데⁴⁾, 면역에서의 自己와 非自己는 한의학의 正氣와 邪氣의 개념과 밀접한 관계가 있다고 여겨진다. 한편, 戴⁵⁾는 방어 기능, 항상성 유지기능, 면역 감시기능 등 면역의 3대 기능을 한의학의 正氣의 작용과 유사한 것으로 인식하였다.

생체의 면역응답에 대한 능력은 노화(aging)되어 갈수록 저하되어 간다는 것은 잘 알려져 있다^{1,3,6)}. 또한 나이가 들수록 암에 걸릴 확률도 점차로 높아지며 특히 간장 및 호흡기 계통의 암의 발생 빈도가 크게 증가하고 있다고 보고되고 있다²⁾.

全蝎 (*Buthus martensi Karsch*)은 熄風鎮痙, 化痰祛瘀 등의 효능으로 中風 半身不隨, 口眼喎斜 뿐만 아니라 癲癇抽搐, 急慢驚風, 破

傷風 등의 치료에 활용되어 왔으며⁷⁻¹⁰⁾ 抗痙攣, 血壓降下, 鎮靜鎮痛 作用 등¹¹⁻¹⁴⁾이 있는 것으로 밝혀졌는데 이러한 작용들로 인해 방어 기능을 담당하므로 면역 기능과도 관련이 있을 것으로 보인다.

그러므로, 저자는 全蝎 추출액이 노화에 따른 면역 기전에 미치는 영향을 검토하기 위하여 여러 週齡의 mouse의 IgM 및 IgG 항체의 생성에 미치는 영향을 조사하였으며, 아울러 macrophage의 탐식 능력을 측정하고 비장세포로부터 용혈반 형성세포 및 natural killer (NK) 세포의 활성에 미치는 영향을 조사하였다.

II. 材料 및 方法

1. 材 料

1) 藥 材

全蝎 (*Buthus martensi Karsch*)을 시중에서 구입한 후 정선하여 사용하였다.

2) 動 物

효창 사이언스에서 구입하여 일정한 조건하(온도 : $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 : 40~60%)에서 적응시킨 5주령, 12주령, 24주령, 78주령의 雌性 Balb/c mouse를 사용하였다.

*동국대학교 한의과대학 내과학교실

3) 試藥

complete와 uncomplete Freund's adjuvant, BSA (bovine serum albumin), Percoll, RPMI 1640은 Sigma사 (Sigma Chem. Co., St. Louis, MO, U.S.A.), Glucocorticoid는 Upjohn사 (Solu-Medrol, Korea), Fetal bovine serum (FBS)와 antibiotic/antimycotic은 Gibco사 (Gibco BRL, Life Techno. Inc., NY, U.S.A.), biotinylated rabbit anti-mouse IgM 및 biotinylated rabbit anti-mouse IgG_{2b}는 Zymed사 (Zymed Lab. California, U.S.A.), Nylon Wool은 Wako사 (Wako Chem. Co., Tokyo, Japan), Sabouraud's dextrose broth는 Difco사 (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U.S.A.)의 제품을 사용하였으며, 그 외의 모든 시약은 모두 특급품을 사용하였다.

2. 方法

1) 추출액의 製造

반드시 사용시 제조하여 실험에 사용하였는데, 全蝎 14 g을 細切하여 증류수 350 ml를 넣어 회전 감압 증류기에서 가능한 한 저온으로 2시간 추출한 다음 여과지를 사용하여 감압 여과하였으며, 남아 있는 미량의 침전물은 원심분리기를 사용하여 4°C에서 3,500 rpm으로 20분간 원심분리하여 제거하였으며 상층액 (이를 원액으로 사용함)을 실험에 사용하였다. 以下, 全蝎의 물 추출액은 全蝎 추출액으로 표기하였다. 한편, 시료를 멸균할 때에는 membrane filter (0.22 μ m, Whatman, Germany)를 사용하여 여과 멸균하였다.

2) 抗原 및 免疫法

사용한 항원은 합텐 (hapten)인 MA (methamphetamine)에 BSA (bovine serum albumin)를 conjugation시킨 MA-BSA를 사용하였으며, 이를 Freund's complete adjuvant와 incomplete adjuvant와 혼합하여 복강에 면역

하였다. 그 후 각 週齡의 군 14마리중 7마리는 물만 투여하였으며 나머지 7마리는 물 대신 全蝎 추출액을 2배 희석하여 14일 동안 투여하였다.

인위적으로 mouse에 면역 억제를 유도할 목적으로 면역 억제제를 투여한 군은 12주령의 음성 Balb/c mouse에 glucocorticoid (1회 80 mg/kg, *i.p*)를 1주일 동안 복강에 주사한 뒤 항원을 투여하였다.

3) IgM 抗體 生成 測定^{15,16)}

마우스에 全蝎 추출액을 4일간 경구 투여한 후 항원인 MA-BSA를 Freund's complete adjuvant와 혼합하여 복강에 면역하고 다시 7일간 mouse에 全蝎 추출액을 경구 투여하고, 다시 항원을 Freund's incomplete adjuvant와 혼합하여 재 면역한 뒤 3일 후 채혈하여 실온에서 30분간 방치한 뒤 혈청을 분리하여 실험에 사용하였다.

면역 글로블린의 양은 ELISA (enzyme linked immunosorbent assay)법으로 측정하였다. MA-BSA를 coating buffer (pH 9.0)로 2 μ g/ml로 조정하여 well당 50 μ l씩 96well (Nunc. Inter Med. Co., Denmark)에 흡착시킨 다음 3% BSA-PBS로 실온에서 2시간 동안 blocking시켰다. 그 후 분리한 혈청을 희석하여 각각 50 μ l씩 넣고 2시간 반응시킨 다음 plate를 세척하고 항체의 heavy chain에 특이적으로 결합하는 biotinylated rabbit anti-mouse IgM를 넣어 다시 실온에서 2시간 배양하고, 다시 peroxidase conjugated streptavidin으로 1시간 반응시킨 후 *o*-phenylenediamine을 기질로 해서 492 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) IgG 抗體 生成 測定^{15,16)}

기본적인 측정 방법은 IgM 측정의 경우와 유사하나, 항원인 MA-BSA를 투여하고 1주 후 추가면역 (booster)을 행하였으며, 2주 후 다시 재 booster하고 3일 후 혈액을 채취하여 혈청을 분리하였다. 그러나, 全蝎 추출액의 투

여 기간은 14일로 하였다. ELISA 방법에서도 2차 항체의 heavy chain에 specific한 biotinylated rabbit anti-mouse IgG_{2b}를 사용하였으며 그 외의 방법은 IgM 항체 측정시와 동일하였다.

5) 菌柱 培養

*Candida parapsilosis*는 한국중균협회에서 분양받은 것을 계대 배양해서 사용했으며, 계대 배양 기간은 1개월 간격으로 Sabouraud's dextrose agar에 사면 배양하였으며, 이 균주를 4 °C에서 냉장 보관하였다. 실험시에는 *C. parapsilosis*를 Sabouraud's dextrose broth에 접종하여 진탕 배양 후, PBS로 1,500 rpm에서 10분간 세척하여 사용하였다.

6) Macrophage의 貪食能 測定^{17,18)}

全蝸 추출액은 14일간 경구 투여하였으며 15일째 복강에서 복강세포를 취하여 RPMI 1640 배지를 사용하여 세포부유액을 만들었다. 복강세포를 플라스틱 샤아레에 옮기고 37 °C에서 2시간 CO₂ 배양기에 정착시키고 흡착되지 않은 부유세포를 흡입 제거한다. 이후 샤아레에 부착되어 있는 macrophage를 분리하여 세척한 다음 본 실험에 사용하였다. 그리고, 균주로 *C. parapsilosis* 부유액 (8×10^3 cells/ml) 50 μ l와 여기에 macrophage (8×10^4 cells/ml) 50 μ l, 또한 같은 종류의 mouse 혈청으로부터 나온 보체(5%) 100 μ l를 rounded microtiter plate에 주입, 혼합하여 CO₂ incubator에서 3시간 동안 배양한다. 그 후 배양액 50 μ l를 취하여 Sabouraud's dextrose agar에 옮기고, 35 °C에서 2일간 배양하여 살아 있는 *C. parapsilosis*의 colony 수를 세어 식세포에 의해 탐식된 *C. parapsilosis*의 생존 수를 측정하였다.

7) mouse 脾臟 細胞의 調製¹⁹⁾

mouse를 절식시키고 고정시킨 다음 70%의 alcohol로 전신을 소독하고 멸균가위를 사용하여 비장을 무균적으로 적출한 다음, 차가운

RPMI 1640 배지 10 ml가 들어 있는 샤알레에 옮기고 작은 해부용 가위로 비장을 몇 번 자른 뒤 소독된 끝이 굽은 핀셋으로 주물러 가면서 비장 속에 들어 있는 대부분의 세포들을 회수한다. 이때 세포에 들어 있는 적혈구는 lysis buffer (0.16 M NH₄Cl-0.17M Tris, pH 7.2)를 5 ml 넣고 천천히 혼합한 다음 1,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하여 제거한다. 그 후 1회 세척한 다음 멸균된 Nylon mesh (#200)를 사용하여 여과해서 다른 조직의 혼입을 제거하였으며, 10% FBS-RPMI 1640 배지에 현탁하여, 다음 실험에 사용하였다.

8) 溶血斑 形成 細胞數 測定

항체 생산세포의 검정은 Cunningham의 방법²⁰⁾에 따라 행하였다. 전갈 추출액 투여는 14일간 행하였고 10일째에 SRBC (Sheep red blood cells)를 0.9% NaCl로 1×10^9 cells/ml가 되게 조정하여 mouse의 복강에 0.2 ml 주사하였다. 4일 후 비장을 적출하고 세포 부유액으로 만들어 3회 세척하여 1×10^6 cells/ml가 되도록 조정한 비장세포 200 μ l와 10% SRBC 36 μ l, 보체 21 μ l 그리고 5% FCS-Hanks balanced salt solution 143 μ l를 혼합하여 제작한 Cunningham chamber에 넣고 37 °C incubator에서 1시간 동안 배양하였다. 항체 생산세포 주위에 적혈구가 용해된 투명한 용혈반이 생성되면 이 때의 용혈반 수를 세어 항체생산 세포 수를 산정하였다.

9) Natural killer cell 活性 測定

① Percoll gradients의 調製²¹⁾

100% Percoll (비중 1.090, Sigma사) 100 ml, RPMI 1640 배지 50 ml를 가하고 여기에 15 ml의 FBS를 넣어 60.6% Percoll-RPMI 용액을 만든다. 다음 60.6% Percoll액을 10% FBS-RPMI에 희석해서 각각 56.6, 52.1, 47.6, 43.1 및 38.6%의 Percoll액 (4.5% gradients)을 만든다. 15 ml의 바닥이 둥근 tube에 조제

한 각 농도의 Percoll액을 2 ml씩 천천히 넣어, 4.5%의 불연속 농도 구배를 만든다.

② Natural killer 세포의分離

조제한 4.5% 불연속 구배에 위의 비장 세포 조제 실험에서 Nylon wool column에 부착되지 않고 통과된 비장 세포 분획 1 ml를 조용히 넣고, 1,600 rpm에서 45분간 실온에서 원심분리를 행한다. 이때 속도 상승은 반드시 5분간에 걸쳐서 천천히 증가되도록 하여야 한다. 원심분리가 끝나면 각각의 중간층을 순서대로 천천히 회수한다. 본 실험에서는 첫번째 중간층을 NK 세포로 회수하여 10% FBS-RPMI 1640 배지로 2번 세척하여 natural killer 세포 활성 측정에 사용하였다.

③ Natural killer 세포의 活性測定

NK 세포 활성 측정은 lactate dehydrogenase (LDH) activity로 측정하였다.²⁰⁾ 먼저 분리한 NK 세포를 밀이 등근 96 plate에 1×10^6 cells/well 되게 100 μ l씩 분주한다. 여기에 표적 세포로 배양한 K562 세포를 1,000 rpm으로 3분간 원심분리하여 세척하고 assay medium (1% FBS-RPMI 1640)으로 현탁시킨 뒤 2×10^4 cells/well (NK 세포 : K562 세포 = 50 : 1) 되도록 100 μ l를 다시 넣는다. 200 μ l의 혼합액을 가볍게 흔든 뒤 37 °C의 5% CO₂ incubator에서 4시간 배양시킨다. 배양 후 이 plate를 1,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액 100 μ l를 취한 후 다른 plate에 옮기고 100 μ l의 반응 혼합액을 각 well에 넣은 다음 실온에서 약 30분간 차광하여 반응시키고 492 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 back ground control로는 assay medium 200 μ l를 넣었으며, positive control로는 100 μ l의 표적세포 (2×10^4 cells)에다 2% Triton X-100-assay medium 100 μ l를 첨가하였다. 음성 대조군으로는 100 μ l의 표적 세포에다 assay medium만 100 μ l 첨가해서 사용하였다.

10) 有意性 檢定

實驗 結果의 有意性 檢定은 Student's t-test를 利用하여 相互比較하여 觀察하였다.

III. 成 績

1. IgM 항체 생성에 미치는 영향

5주령, 24주령, 78주령에서 대조군의 경우 각각 1.097 ± 0.056 , 1.189 ± 0.036 , 0.807 ± 0.023 으로 나타났다. 반면, 全蝎 추출액을 투여한 경우 각각 1.401 ± 0.070 , 1.575 ± 0.070 , 1.340 ± 0.052 로 나타나 대조군과 비교해 보면 5주령에서 1.27배, 24주령에서도 1.33배 그리고 78주령에서는 1.66배의 항체 생성이 증가하는 것으로 나타나 노령화가 될수록 全蝎 추출액에 의한 IgM 항체 생성 폭이 현저하게 증가하는 것으로 나타났다. 또한, glucocorticoid를 투여한 군에서는 대조군이 0.670 ± 0.035 에서 全蝎 추출액의 투여로 1.245 ± 0.071 로 증가되어 약 1.86배 IgM 항체 생성이 증가하는 것으로 보아 全蝎 추출액은 면역기능저하에 의해 억제된 IgM 항체 생성을 증가시킴을 알았다. (Fig. 1)

2. IgG 항체 생성에 미치는 영향

5주령, 24주령, 78주령에서 대조군의 경우 0.786 ± 0.010 , 0.873 ± 0.010 , 0.558 ± 0.015 으로 나타났다. 그리고, 全蝎 추출액의 투여로 0.884 ± 0.021 , 0.938 ± 0.022 , 0.784 ± 0.024 로 나타나 각각의 대조군과 비교해 보면 5주령에서 1.12배, 24주령에서 1.08배 그리고 78주령에서는 1.4배의 항체 생성이 증가하였다. 또한, glucocorticoid를 투여한 군에서는 IgG 항체 생성이 대조군의 0.374 ± 0.025 에서 $0.555 \pm$

0.039로 약 1.5배 증가하는 것으로 나타나 全蝎이 면역기능저하에 의해 억제된 IgG 항체 생성도 유의성 있게 증가시키는 것으로 나타났다. (Fig. 2)

3. Macrophage 탐식능에 미치는 영향

대조군의 경우는 5주령, 24주령, 78주령 각각에서 42.76 ± 1.18 , 46.44 ± 1.52 , 36.57 ± 1.33 으로 나타나 대조군과 비교해 보면 각각 1.19배, 1.29배 그리고 1.54배로 macrophage에 의한 탐식능력이 증가하는 것으로 나타났다. 또한, glucocorticoid를 투여한 군에서는 대조군의 17.54 ± 1.11 에서 29.94 ± 2.09 로 약 1.71배 증가하는 것으로 나타나 全蝎이 면역 억제제에 의해 억제된 macrophage의 탐식 능력도 유의성 있게 증가시키는 것으로 나타났다. (Fig. 3)

4. 용혈반 형성 세포수에 미치는 영향

5주령, 24주령, 78주령에서 대조군은 137.7 ± 9.5 , 173.4 ± 12.8 , 113.4 ± 6.5 인 반면, 全蝎 추출액을 투여한 군에서는 185.0 ± 9.3 , 242.0 ± 10.6 , 190.3 ± 6.2 로 나타나 대조군에 비하여 5주령에서 1.38배, 24주령에서 1.48배 그리고 78주령에서는 1.68배로 유의성 있게 증가하였다. 그리고, glucocorticoid를 투여한 군에서는 대조군의 64.9 ± 4.9 에서 118.3 ± 6.2 로 약 1.82배로 현저하게 증가하는 것으로 나타났다. (Fig. 4)

5. Natural killer 세포 활성화에 미치는 영향

Fig. 5에 NK 세포의 K562 세포에 대한 세포 손상 작용을 % cytotoxicity로 나타내었다. 5주령, 24주령, 78주령의 경우 대조군에서는 각각 49.89 ± 1.54 , 54.81 ± 1.46 , 37.41 ± 1.39 인 반면, 全蝎 추출액을 투여한 경우 60.27 ± 2.09 , 71.13 ± 2.91 , 55.83 ± 2.70 으로 나타나 각각의

대조군에 비해 5주령에서는 1.21배, 24주령에서는 1.30배 그리고 78주령에서는 1.49배로 유의성 있게 NK 세포의 활성이 증가되었다. 한편, 면역 억제제인 glucocorticoid를 투여한 군에서는 대조군의 20.26 ± 1.21 에서 全蝎 추출액의 투여로 40.36 ± 1.76 으로 나타나 세포 활성이 1.88배 증가하는 것을 관찰할 수 있었다.

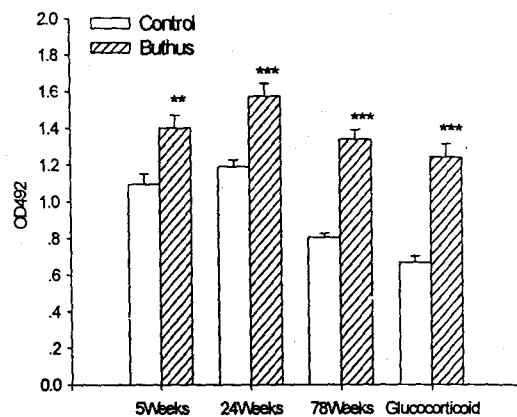


Fig 1. Effects of *Buthus martensi Karsch* on mouse IgM production according to age.

Antigen (MA-BSA) was coated on 96 well plate for overnight. Serum antibody (IgM) was incubated for 2hrs and washed with PBS buffer 3 times. The quantity of bounded antibodies was detected with biotinylated rabbit anti-mouse IgM and peroxidase conjugated streptavidin. The detailed procedure was described in Materials and methods.

Results represent the means \pm S.E. (n=7) Significantly different from control (** P<0.01, *** P<0.001).

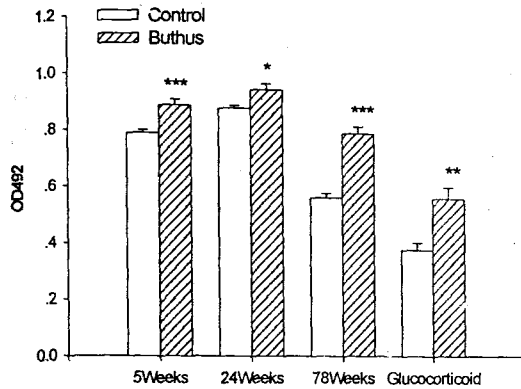


Fig. 2. Effects of *Buthus martensi Karsch* on mouse IgG production according to age.

Antigen (MA-BSA) was coated on 96 well plate for overnight. Serum antibody (IgG) was incubated for 2hrs and washed with PBS buffer 3 times. The quantity of bounded antibodies was detected with biotinylated rabbit anti-mouse IgG2b and peroxidase conjugated streptavidin.

Results represent the means \pm S.E. (n=7) Significantly different from control (* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001).

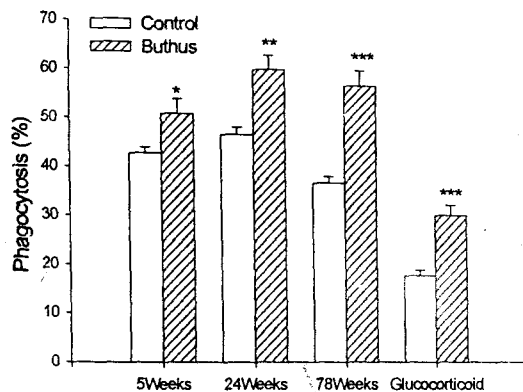


Fig. 2. Effects of *Buthus martensi Karsch* on mouse IgG production according to age.

Antigen (MA-BSA) was coated on 96 well plate for overnight. Serum antibody (IgG) was incubated for 2hrs and washed with PBS buffer 3 times. The quantity of bounded antibodies was detected with biotinylated rabbit anti-mouse IgG2b and peroxidase conjugated streptavidin.

Results represent the means \pm S.E. (n=7) Significantly different from control (* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001).

Fig. 3. Effects of *Buthus martensi Karsch* on phagocytic activity of peritoneal exudate cells according to age.

Macrophage was effectively purified from mouse peritoneal crude cells and then phagocytic activity of macrophage was examined. The detailed procedure was described in Materials and methods.

Results represent the means \pm S.E. (n=7) Significantly different from control (* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001).

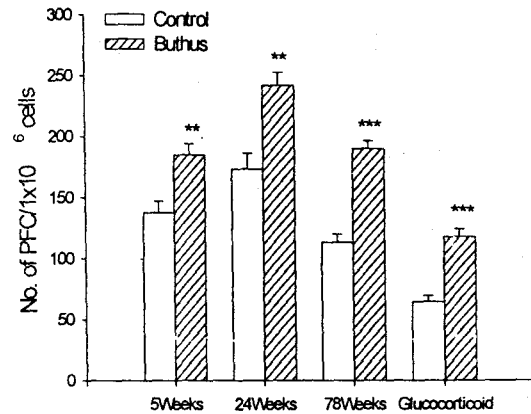


Fig.4. Effects of *Buthus martensi Karsch* on hemolytic plaque assay according to age.

Balb/c mice were orally given extraction of *Buthus martensi Karsch* for 14days. The mice were immunized with 0.2 ml SRBC (1×10^9 cells/ml) 4 days before assay.

Results represent the means \pm S.E.(n=7) Significantly different from control (** P<0.01, *** P<0.001).

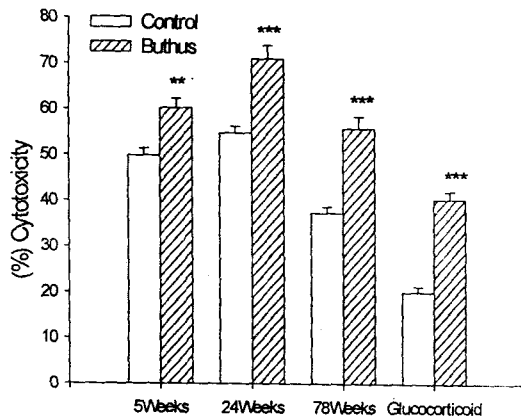


Fig.5. Effect of *Buthus martensi* Karsch on cytotoxic activity of purified natural killer cells against K562 cells according to age.

NK cells (1×10^6 cell/well) and K562 cells (2×10^4 cells/well) were incubated at 37°C for 4 hrs. Cytolytic activity in the culture supernatant was measured by LDH assay.

Each value represents the mean \pm S.E. (n=7). Significantly different from control (** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$).

IV. 考 察

인간은 나이가 들수록 질병에 걸릴 확률이 높아지게 된다. 이것은 加齡에 따른 면역기능의 저하가 그 주요 원인이 될 수 있다. 노화는 생물체가 시간이 경과함에 따라 기능상 혹은 형태상의 변화를 일으키는 현상으로 생명체의 노화현상은 사람과 동물이 죽음에 이르게 되는 가장 근본적인 원인이 됨은 잘 알려

져 있다.¹⁾

老化란 세포의 쇠퇴를 말하며 이러한 세포의 쇠퇴는 세포에 정보를 제공하는 각종 면역기전 및 응답의 저하가 관련되어 있다고 볼 수 있다. 따라서 노화현상은 면역기전의 저하로 인해 그 발생빈도가 높아 질 수 있으며, 또한 면역기전에 관여하는 각종 활성화 기전의 이상은 암을 비롯한 퇴행성 질환을 일으키는 중요한 원인이 되고 있다.^{1,2)}

생체내에서 면역을 담당하는 세포들 중에 가장 먼저 외부항원에 대응하는 세포는 macrophage 이다. 이 세포는 분비세포로서 식작용 (phagocytosis) 및 항원제시 능력 (antigen presenting cell)을 가진다. 식작용은 endocytosis에 의해 세균이나 virus 등의 외부 침입 물질을 macrophage 내부로 끌어들여 lysozyme에 의해 절편화 (fragment)시키는 작용을 말하며, 항원제시 능력은 절편화한 항원을 MHC (major histocompatibility complex) 분자와 함께 세포표면에 제시함으로써 T세포 및 B세포에 면역 반응을 야기시킨다. 이와 같은 작용을 통해 macrophage는 면역 응답의 최일선을 담당하고 있다. 일단 macrophage에 의해 항원이 제시되면 helper T세포의 도움을 받아 B세포가 항체를 분비할 수 있는 plasma 세포로 분비되어 항원에 대한 항체가 분비되게 된다. 이때 plasma 세포는 IgM을 가장 먼저 분비하게 되며, 분비된 IgM은 생체의 1차 면역을 담당하게 되므로 IgM의 분비 능력은 생체 방어의 관점으로 볼 때 매우 중요하다.^{1,2)}

NK 세포는 특별히 항원의 자극을 받지 않아도 암 세포 및 바이러스 감염 세포에 대해서 독성을 가지는 림파계 세포로 생체의 면역 감시 기전의 주역을 담당한다고 알려져 있다.²⁾ 실제로 생체내에서 암세포가 발생하면 NK 세포는 자기의 암 세포의 항원을 인식하

여 세포간의 상호작용에 의하여 NK 세포는 타용해 단백질인 perforin에 의하여 암세포를 파괴한다고 알려져 있다.^{24,25)} 그러나, 암환자에서는 NK 세포의 활성이 저하되어 있어 면역 부활제 등의 투여로 NK 세포의 활성을 증가시키려는 시도가 행하여지고 있다.^{26,27)}

Glucocorticoid는 세포간의 면역 응답을 억제하는 대표적인 제제로서 移植片 拒絶反應, 골수 이식 후 급성 이식편 대숙주병 억제 및 자가 면역질환의 치료제로 널리 사용되는 steroid계 물질이다.²⁸⁾ 이는 세포성 면역 및 체액성 면역을 동시에 억제시키며, macrophage의 유주 억제, macrophage의 항원 처리능 억제, 림파구의 항원에 대한 감각 억제와 interleukin-2의 생성 억제 및 세포손상성, T 세포의 거절 반응을 억제시키는 제제이다.²⁹⁾ 또한, 이 제제는 저렴하고 항 allergy에 탁월한 효과를 나타내며, 혈액 질환, 위장관 질환 등 지금까지 임상에서 널리 사용되고 있는 약물중의 하나이지만 동시에 면역기능 저하로 인한 감염성 증가, 신장 장애 등 많은 부작용도 발생하고 있다.³⁰⁾

全蝎은 韓醫學에서 熄風鎮痙, 化痰祛瘀 등의 효능으로 驚癇抽搐, 小兒臍風, 急慢驚風, 破傷風, 中風振顛 등⁷⁻¹⁰⁾에 사용되고 있다. 그리고, 최근의 실험보고¹¹⁻¹³⁾에 의하면 呼吸麻痺, 흥분, 근육경련, 사지마비 등의 독성을 가진 蛇毒이나 신경독과 유사한 일종의 단백질인 蝎毒과 여러 종류의 지방산, 아미노산 및 Na, K, Cu, Fe, Mn 등의 구성 원소들이 밝혀지고 있다. 또한, 뇌조직에서 GABA-T의 활성 변화에 따른 뇌 GABA 함량을 조절하므로써 간질 증상을 예방할 수 있다고³¹⁾ 하였으며, Na⁺-K⁺-ATPase 활성을 억제시키므로 신경조직에서 신경전달물질의 유리를 증가시켜 신경세포의 기능에 관여할 가능성을 보고하였다.³²⁾

이에 著者는 全蝎이 면역기능 저하에 미치는 영향을 검토하기 위하여 각기 다른 주령의

실험 동물에서 면역 기능에 어떠한 작용을 하는지를 살펴보았으며, 동시에 노화의 진행과 비례하는 암 발생에 대한 항암 효과를 규명하기 위하여 항암 세포인 NK 세포 활성 등을 관찰하였다.

일차적으로 가장 먼저 외부 침입 물질에 대항하는 macrophage의 탐식 능력은 실험군 모두에서 全蝎 추출액의 투여로 증가되었는데 老齡化가 될수록 탐식 능력의 상승폭이 현저하게 증가하였으며, 면역 억제제에 의해 저하된 경우는 그 상승폭이 더욱 컸다. Macrophage의 탐식 능력이 증가함에 따라 IgM 항체 생성도 각 실험군 모두에서 대조군에 비하여 全蝎 추출액의 투여로 유의성 있게 증가되었는데, 老齡化가 진행될수록 그 상승폭이 증가되고 면역이 저하된 경우는 그 증가폭이 현저하였다.

아울러 용혈반 형성에 미치는 영향도 유사하게 나타났는데, 그 증가폭은 老齡化가 될수록 크게 나타났고 면역 기능이 저하된 경우는 증가폭이 더욱 컸다. 이러한 결과는 全蝎이 B 세포의 항체 생성능력을 증가시켜 생성된 항체에 의해서 항원인 SRBC를 파괴하여 강한 용혈반을 형성시켰음을 알 수 있다.

全蝎이 2차 면역기능을 담당하는 IgG 항체 생성에 미치는 영향을 검토하였을 때는, IgM의 경우와 같이 노령화가 될수록 全蝎 추출액에 의한 Ig G 항체 생성의 폭도 유의성 있게 증가하였으며, glucocorticoid로 면역기능이 저하된 경우에도 현저히 증가시키는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 IgM의 경우와 유사하나 그 증가폭은 전반적으로 IgM 항체의 경우보다는 낮았다.

全蝎 추출액의 면역 기능 증가가 암세포의 살해기전에 작용하는 NK 세포의 활성에는 어떠한 영향이 있는지를 살펴보았다. 그 결과, 老齡化가 될수록, 면역기능이 저하될수록 NK 세포의 활성은 증가되었다. 全蝎이 NK 세포를 활성화시키는 기전에 관해서는 보다 자세

한 연구가 필요하다고 여겨지나, 암세포 상해에 관련된 NK 세포의 활성을 증가시키는 것으로 보아 암에 대한 면역에 관여할 가능성을 시사하고 있다고 사료된다.

이상의 결과를 종합하여 보면, macrophage의 탐식능력 증가 및 IgM 항체 생성 증가는 全蝎 추출액이 1차 면역기전을 증가시킴을 알 수 있으며 이러한 효과는 실험 동물의 연령이 높을수록 증가하는 것으로 보아 全蝎은 老齡化에 의해 저하된 면역기능의 부활에 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 또한, IgG 항체의 유의성 있는 증가 및 NK 세포의 활성 증가는 2차 면역기전인 암세포에 대한 억제작용을 증가시킬 수 있을 것으로 생각되며 보다 자세한 연구가 필요하다고 여겨진다.

V. 結 論

老齡에 의한 면역기전 저하에 全蝎 추출액이 어떠한 영향을 미치는 지를 알아보기 위하여 5주령, 24주령, 78주령 및 면역억제제를 사용하여 인위적으로 면역 저하를 일으킨 Balb/c mouse를 사용하여 실험을 하였다.

全蝎 추출액은 1차 면역 응답에 관여하는 IgM 항체의 생성과 macrophage의 탐식능력을 증가시켰으며 이러한 증가는 老齡化될수록 현저하게 증가하였다. 한편, 이에 따른 IgG 항체의 생성도 유의성 있게 증가시켰으며, 용혈반 형성을 증가시키는 것으로 보아 B세포에 의한 항체 생성도 증가시킴을 알 수 있었다. 또한, 암세포의 살해능을 가진 NK 세포의 활성을 증가시키는 것으로 나타나 암 면역 기전에도 관여함을 시사하고 있다.

參考文獻

- 1) 孔海云 : 現代自身免疫病學, 人民軍醫出版社, pp.10-11, 21-25, 65-79, 1996.
- 2) Makinodan, T., James, S.J., Inamizu, T. and Chang, M.P. : Immunologic basis for susceptibility to infection in the aged, *Gerontology*, 30: 279-289, 1984.
- 3) Makinodan, T. and Petterson, W.J. : Growth and senescence of the primary antibody formation potential of the spleen. *J. Immunol.*, 93: 889-896, 1964.
- 4) 文濬典, 安圭錫 : 東醫病理學, 高文社, pp.78-80, 1990.
- 5) 戴新民 : 中醫免疫學, 啓業書局有限公司, pp.27-30, 1982.
- 6) Kigukawa, K. : Age pigments : Relationship between lipid peroxidation and Formation of Fluorescent pigments, *衛生化學*, 30:333-343, 1984.
- 7) 辛民教 : 臨床本草學, 南山堂, pp.502-503, 1986.
- 8) 吳儀洛 : 本草從新, 宏業書局, p.89, 1987.
- 9) 李時珍 : 本草綱目, 醫聖堂, pp.2282-2285, 1993.
- 10) 顏正華 : 中藥學, 人民衛生出版社, pp. 694-695, 1995.
- 11) 郝麗莉 外 : 中藥全蝎的研究進展, *中醫藥學報*, 5:49-55, 1994.
- 12) 貴編組 : 中藥辭典, 中國醫藥科技出版社, pp.2203-2205, 1993.
- 13) 江蘇新醫學院 編 : 中藥大辭典, 上海科學技術出版社, pp.709-711, 1995.
- 14) 許慶美 外 : 全蝎水鍼이 鎮痛 및 鎮痙效果에 미치는 影響, *大韓針灸學會誌*, 13(1): 392-403, 1996.
- 15) Nam, K.S., Igarshi, K., Umeda, M.

- and Inoue, K. : Production and characterization of monoclonal antibodies that specifically bind to phosphatidylcholine, *Biochim. Biophys. Acta.* 1046, 89-96, 1990.
- 16) Nam, K.S., Kim, J.H., Choi, M.J., Han, M.Y., Choe, I.S. and Chung, T.W. : Production and characterization of monoclonal antibody that simultaneously recognized methamphetamine and its major metabolite, *Biol. Pharm. Bull.* 16:490-492, 1994.
- 17) Komatsu, Y., Ono, N. and Abe, A. : 食能測定法. 炎症, 4:379-380, 1984.
- 18) Maruyama, H., Kawamura, H., Takemoto, N., Komatsu, Y., Aburada, M. and Hosoya, E. : 韓方方劑 食細胞 影響, 炎症, 8:65-66, 1988.
- 19) 이은홍, 문진영, 최미정, 남경수, 김두희, 임종국 : 인삼 약침요법이 glucocorticoid 투여 마우스의 임파구 활성화에 미치는 영향, *대한면역학회지*, 19:355-362, 1997.
- 20) Cunningham, A.J. and Szenberg, A. : Further improvements in the plaque technique for detecting single antibody-forming cells, *Immunology*, 14:599-560, 1968.
- 21) Osawa, T. : 續生化學 實驗講座 5 免疫生化學研究法, 東京化學同人, pp.165-191, 1989.
- 22) 해리슨 내과학 편찬위원회 : Harrison's principles of internal medicine 13th Edn. Korean language edition, 정답, pp. 1663-1679, 1997.
- 23) Ortaldo, J. R. and Herberman, R.B. : Heterogeneity of natural killer cells, *Annual Review of immunology*, pp. 359-394, 1984.
- 24) Ortaldo, J. R., Winkler-Pickett, R.T., Nagashima, K., Yagita, H. and Okumura, K. : Direct evidence for release of pore-forming protein during NK cellular lysis, *J.Leuk.Biol.*, 52:483-488, 1992.
- 25) Podack, E.R. : Molecular mechanisms of cytotoxicity by complement and by cytotoxic lymphocytes, *J.Cell.Biochem.*, 3:127-164, 1986.
- 26) Chan, S.H., Perrussia, B., Gupta, J.W., Kobayashi, M., Pospisil, M., Young, H.A., Wolf, S.F., Young, D., Clark, S.C. and Trinchieri, G. : Induction of interferon gamma production by natural killer cell stimulatory factor: characterization of the responder cells and synergy with other inducers, *J. Exp. Med.*, 173: 869-879, 1991.
- 27) Kobayashi, M., Fitz, L., Lyan, M., Hewick, R. M., Clark, S.C., Chan, S., Loudon, R. Sherman, F., Perussia, B. and Trinchieri, G. : Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes, *J. Exp. Med.*, 170:827-845, 1989.
- 28) 田中千架子, 加藤隆一 : 藥理學 改訂 第2版, 南江堂, pp.483-509, 1994.
- 29) 木下牧子, 橫張龍一 : 日本臨床, 46: 137-142, 1988.
- 30) 홍사석 엮음 : 이우주의 약리학 강의 제2판, 선일문화사, pp. 502-510, 1990.
- 31) 신현철, 윤철호, 김종대, 정지천, 신역섭, 허근 : 全蝎 抽出物의 抗癌變效 果에 關한 研究, 한국한의학회연구논문집, 3:199-213, 1997.
- 32) 尹鍾榮, 申鉉喆, 尹哲浩, 徐雲教, 金鍾吳, 鄭智天 : 全蝎이 腦組織의 Na^+ - K^+ -ATPase 活性에 미치는 影響, 大韓韓方內科學會誌, 19(1):431-441, 1997.

ABSTRACT

Effects of *Buthus martensi Karsch* on immune response in mice of different ages

In-Chae Jeong, Ji-Cheon Jeong
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine
Dongguk University

To clarify the activating effects of *Buthus martensi Karsch* on immunological function, its effect on primary and secondary antibodies production in mice of various ages was investigated.

Buthus martensi Karsch increased the number of both antibody producing cells (anti-IgM and anti-IgG producing plaque forming cells, PFC) and phagocytic activity of peritoneal macrophage. Furthermore, these phenomena were significantly increased with aging in mice. *Buthus martensi Karsch* also increased natural killer cell activity concerning to cancer immunology.

These results suggest that *Buthus martensi Karsch* markedly increases the reduced activity in the elderly and activates the immune response in senescence mice.

Key words : *Buthus martensi Karsch*, senescence, immune response, natural killer cell